

Z. klin. Chem. u. klin. Biochem.
8. Jg., S. 314—317, Mai 1970

Vergleich der Ergebnisse der ionenaustauschchromatographischen und der enzymatischen Bestimmung des Glutamingehaltes menschlichen Serums

Von K. BEYERMANN und K. WEISE

Institut für Anorganische Chemie und Kernchemie der Universität Mainz

(Eingegangen am 6. Februar 1970)

Die ionenaustauschchromatographische Bestimmung des Glutamins nach ORESKES wird variiert. Es wird bei 30° an einer 125 cm langen Säule von 0,6 cm Durchmesser mit Chromobead, Typ B, bei pH 2,88 (Citratpuffer) chromatographiert. Ein Puffergradient ist zur Trennung von Glutamin und Asparagin nicht nötig. 40 µg Glutamin werden mit einer Ausbeute von 87% mit einem Variationskoeffizienten von 3% (n = 6) wiedergefunden.

Zur enzymatischen Bestimmung eignet sich die Glutaminase der Fa. Worthington. Durch Diazentrieren enteiweißte Serumproben werden bei 39° 30 Min. lang bei pH 4,8 mit 0,5 mg Enzym inkubiert. Das in Freiheit gesetzte Ammoniak wird abdestilliert und durch coulometrische Titration bestimmt. 40 µg Glutamin sind mit einem Variationskoeffizienten von 5% (n = 20) bestimmbar.

Bei der Analyse von Serumproben von 25 Gesunden und 15 Leberkranken ergeben beide Verfahren innerhalb ihrer Fehlergrenzen übereinstimmende Ergebnisse. Der Glutamingehalt des Serums von Normalpersonen beträgt im Mittel 8,4 mg/100 ml. Der Mittelwert schwankt mit einer Standardabweichung von 1,2 mg/100 ml. Bei Leberkranken wird ein Mittelwert von 10,1 mg/100 ml gefunden. Die Standardabweichung beträgt 1,1 mg/100 ml.

A comparison of results from the determination of glutamine in human serum enzymically and by ion exchange chromatography

The ion exchange method of ORESKES for the chromatographic determination of glutamine was modified. Chromatography is performed at 30° on a column of chromobead, type B, length 126 cm, diam. 0.6 cm. with citrate buffer, pH 2.88. A buffer gradient is not necessary to separate glutamine and asparagine. 40 µg of glutamine gave a recovery of 87% with a variation coefficient of 3% (6 experiments).

Glutaminase from Worthington was used for the enzymic assay. Serum samples, deproteinised by ultrafiltration were incubated at pH 4.9 for 30 min. at 39°, with 0.5 mg enzyme. The released ammonia was removed by distillation and measured by coulometric titration. 40 µg of glutamine can be determined with a variation coefficient of 5% (20 experiments).

In the analysis of serum samples from 25 healthy persons and 15 with illnesses of the liver, the results from the two methods were in agreement within their limits of error. The average glutamine content for normal serum is 8.4 mg/100 ml. The mean value shows a standard deviation of 1.2 mg/100 ml. In liver patients, the average value was 10.1 mg/100 ml, with a standard deviation of 1.1 mg/100 ml.

Die Konzentration der Säureamide, speziell des Glutamins, im menschlichen Serum soll bei gewissen Lebererkrankungen verändert sein (1, 2). Eine Ausnutzung dieses Befundes zur Routinediagnostik setzt einfache und zuverlässige Analysenverfahren für dieses Amid voraus.

Bisher wurden zur Bestimmung des Glutamins neben Farbreaktionen und biologischen Testverfahren (3) im wesentlichen die ziemlich langwierige Ionenaustauschchromatographie verwandt (4, 5).

Die naheliegende enzymatische Bestimmung des Glutamins konnte sich für Routinezwecke nicht recht einführen, weil die Glutaminase (EC 3.5.1.2) von den Untersuchern aus Nierengewebe (6—9), Lebergewebe (10—13) oder Bakterien (14—19) zuerst isoliert werden mußte und die erhaltenen Präparate oft nicht lange haltbar waren.

In jüngerer Zeit wird nun eine Glutaminase (aus *E. coli*) käuflich angeboten (Fa. Worthington), die frei von Asparaginase-Aktivität ist (17). Dieses Präparat ist bereits zur Bestimmung des Glutamingehalts von Plasma und Urin vorgeschlagen worden (20).

Sowohl die ionenaustauschchromatographische wie die enzymatische Methode sind jedoch unserer Meinung nach vom analytischen Standpunkt nicht befriedigend gesichert. Bei der Ionenaustauschchromatographie ist die Hydrolyse der Amide ein bekannter Fehler (4, 5,

21, 22). — Das Enzym andererseits ist hinsichtlich seiner Spezifität nur mangelhaft untersucht. Selbst nach etwas ausgedehnten Prüfungen der Spezifität (s. u.) kann man nicht sicher sein, ob andere im Serum vorhandene Substanzen, die nicht geprüft wurden oder die ihrer chemischen Natur nach unbekannt sind, nicht bei der enzymatischen Bestimmung stören. Letztlich ist es fraglich, ob durch die andersartige Zusammensetzung pathologischer Seren nicht eine Verfälschung der Ergebnisse der enzymatischen Analyse resultiert. Eine Abschätzung der Brauchbarkeit der beiden Verfahren ist jedoch möglich, wenn mit ihrer Hilfe die gleichen Proben untersucht und die Ergebnisse dann verglichen werden. Die Resultate der beiden unabhängigen Verfahren stützen sich dann eventuell gegenseitig. Für diesen Vergleich variierten wir das Ionenaustauschverfahren nur geringfügig. Die enzymatische Bestimmung änderten wir insofern, als zur Bestimmung des abgetrennten Ammoniaks die coulometrische Titration benutzt wurde.

Material und Methoden

Glutaminase von Worthington Biochem. Co., Freehold, N. J., USA.

Glutamin, ¹⁴C-markiert und Asparagin, ¹⁴C-markiert, von Calbiochem., Los Angeles, Cal., USA. Beide Aktivitäten waren nach

unserer dünn-schichtchromatographischen Überprüfung zu mehr als 90% rein.

Serumproben: Venenblutproben blieben 30 Min. nach der Entnahme ohne weitere Zusätze bei Raumtemperatur stehen. Dann wurde unter Rühren das Fibringerinnsel koaguliert und darauf zentrifugiert. Das überstehende Serum wurde abgehoben und sofort diazentriert. Es wurden Blutproben von Normalpersonen und Leberkranken verwandt. Bei den letzteren waren die Serum-Transaminase-Werte auf mindestens das 20fache gegenüber der Norm erhöht. Die Konzentration des Gesamt-Bilirubins war mindestens auf das Zehnfache der Norm erhöht.

Membranfilterhülsen zum Diazentrieren (nach HOFFMEISTER (23)), von Sartorius, Göttingen.

Chromatographiesäule (von Technicon) mit 126 cm Länge, 0,6 cm Durchmesser, gefüllt mit Chromobeads, Typ B, thermostatisiert auf 30°. Pufferdurchsatz: 30 ml/Std. Puffer zur Chromatographie: 147 g Natriumcitrat + 2 H₂O, 250 ml 2N NaOH, 173 ml HCl (D = 1,16), auf 10 l mit dest. Wasser auffüllen, mit HCl pH von 2,88 ± 0,02 einstellen.

Apparatur zur Destillation des enzymatisch in Freiheit gesetzten Ammoniaks: 5 ml Kölbchen mit seitlichem Ansatzarm und Einleitungsschliff zum Durchleiten des Trägergasstroms (24). Trägergasstrom: 2 l Luft/10 Min., gewaschen durch Durchleiten durch 2N H₂SO₄. Kölbchen geheizt durch Einsetzen in ein Bad von 70°. Austreiben des Ammoniaks durch Zugabe eines Puffers von pH 9,3. Dieser wird hergestellt durch Auflösen von 5 g Natriumcarbonat und 15 g Natriumbicarbonat in 1 l dest. Wasser, dem 30 Tropfen Antischaumemulsion (Serva) zugesetzt werden.

Zelle zur coulometrischen Titration des Ammoniaks (nach PURDY (25)). Zellvolumen 10 ml, Generatorstromstärke etwa 5 mA. Der Generatorstrom wurde mit Hilfe einer Anodenbatterie (90 V, Petrix 78) und geeigneter Widerstände erzeugt. Der Indikatorstrom wurde mit Hilfe eines Microvoltameters (Hewlett-Packard) gemessen und auf einem MECI-Speedomax-Schreiber registriert. Generator- und Indikatorelektroden bestanden aus Platinblechen von etwa 1 cm²-Fläche. Zur coulometrischen Titration wurde der neutralisierten, ammoniakhaltigen Lösung (5 ml) 2 ml gesättigte Kaliumbromidlösung und 3 ml eines Puffers von pH 8,6 zugesetzt. Dieser wurde erhalten, indem 0,1 M Boraxlösung mit Perchlorsäure auf pH 8,6 eingestellt wurde.

Methoden

Enteinführung

Etwas 2 ml Serum wurden mit 6000 U./Min. in Membranfilterhülsen zentrifugiert, die in Plastikhülsen aufgehängt, sich in Zentrifugengläsern befanden. Das Diazentrat wurde entweder sofort verwandt oder bei -20° aufbewahrt.

Chromatographische Bestimmung

0,5 ml Diazentrat wurden auf die Säule aufgegeben und chromatographiert. Das Eluat wurde in Fraktionen von 1 ml gesammelt. Nach 4 Stdn. wurde die Chromatographie beendet und die Säule durch Durchspülen mit 15 ml 2N NaOH und darauf mit 50 ml Puffer vom pH 2,88 regeneriert.

Der Gehalt der einzelnen gesammelten Fraktionen an Aminosäuren wurde mit Hilfe der Ninhydrin-Reaktion bestimmt. Es konnten etwa 2 Serumproben/Tag untersucht werden.

Das Elutionsverhalten von Glutamin wurde durch Aufgabe wäbr. Glutaminlösungen und entsprechend das Verhalten des Asparagins bestimmt. Bei etwa der Hälfte der Versuche wurde das Laufverhalten ferner durch Zugabe radioaktiven Glutamins oder Asparagins überprüft. Die Aktivität wurde mit Hilfe eines Kinardszintillators und eines Tri-Carb-Spektrometers bestimmt.

Enzymatische Bestimmung

0,5 ml Diazentrat wurde mit 0,5 mg Enzym und 0,2 ml Acetatpuffer (1M) von pH 4,9 versetzt. Es wurde 30 Min. lang bei 39° in verschlossenen Destillationskölbchen inkubiert. Darauf wurde nach Zusatz von 1 ml der Pufferlösung von pH 9,3 das Ammoniak im Luftstrom ausgetrieben und in ein Vorlagegefäß eingeleitet, das mit 4 ml 0,5N Schwefelsäure beschickt war. Nach beendeter

Destillation (10 Min.) wurde die Vorlage abgetrennt und ihr Inhalt in das Gefäß zur coulometrischen Titration überführt. Das Vorlagegefäß wurde mit 1 ml 2N NaOH ausgespült und die Spüllösung ebenfalls in das Titrationsgefäß gegeben. Es wurde nach Zusatz von 2 ml Kaliumbromidlösung und 3 ml Pufferlösung (pH 8,6) coulometrisch titriert und der Endpunkt graphisch bestimmt. Das durch den Schreiber registrierte Kurvenbild bestand aus zwei sich im Äquivalenzpunkt unter einem Winkel von etwa 120° schneidenden Geraden.

Zur Erfassung des Blindwerts wurden 2 Versuche angestellt. Er rührt aus bereits im Serum vorhandenem Ammoniak her und ferner aus anderen Verbindungen, die während der Inkubation oder Destillation Ammoniak liefern, sowie aus Reagenzverunreinigungen. Zur Blindwertbestimmung wurde einmal eine 0,5 ml betragende Probe des Diazentrats mit Puffer von pH 4,9 versetzt und bei 39° 30 Min. ohne Enzymzusatz inkubiert. Nach der Inkubation wurde dann bei pH 9,3 das Ammoniak ausgetrieben und anschließend coulometrisch titriert. Der Wert bildet den für die Serumprobe individuellen Blindwert „A“. — In einem weiteren Ansatz wurde 0,5 mg Glutaminase mit 0,5 ml Wasser und 0,2 ml Acetatpuffer von pH 4,9 bei 39° inkubiert und dann bei pH 9,3 das Ammoniak ausgetrieben.

Dieser Blindwert „B“ entspricht der aus dem Enzym in Freiheit gesetzten Ammoniakmenge. (Sie beträgt etwa 0,2 µg NH₃/0,5 mg Enzym.) Wert „B“ braucht nur gelegentlich bestimmt zu werden. Der Gesamtblindwert beträgt A + B.

Es konnten etwa 10 bis 20 Serumproben/Tag mit der enzymatischen Methode untersucht werden.

Ergebnisse

Chromatographie

Beide Amide werden gut getrennt. Asparagin beginnt nach Durchgang von 100 ml Puffer eluiert zu werden. Das Elutionsmaximum liegt bei 105 ml, die Peakform ist symmetrisch. Nach Durchgang von 108 ml verläßt kein Asparagin mehr die Säule. Glutamin wird, beginnend mit 110 ml, eluiert. Das Maximum der Elution liegt bei 112 ml. Sie ist mit 115 ml beendet. Auch hier ist die Peakform symmetrisch.

Die Verfolgung des Elutionsverhaltens mit Hilfe der Photometrie ergibt das gleiche Bild wie bei Verwendung radioaktiv markierter Amide.

Die Ausbeute der Chromatographie, bestimmt durch Photometrie, findet sich bei Einsatz von 40 µg Glutamin zu 87% als Mittel aus 6 Versuchen. Dieser Mittelwert der Ausbeute schwankt mit einem Variationskoeffizient von 3%.

Bei Anwendung radioaktiv markierter Amide ergibt sich das gleiche Bild. Radioaktives Glutamin, das zu 0,5 ml Serum zugesetzt wird, findet sich zu 84% im Eluat wieder. Radioaktives Asparagin wird zu 89% wiedergewonnen.

Enzymatische Bestimmung

Genauigkeit der coulometrischen Ammoniakbestimmung

Bei der Titration von 5 µg Ammoniak wird ein Variationskoeffizient von 2,2% (n = 44), von 10 µg Ammoniak von 3,3% (n = 26) gefunden. Die kleinste bestimmbare Ammoniakmenge beträgt etwa 0,2 µg.

Enzymatische Analyse

Das Enzym setzt bei pH 4,9 optimal um (s. a. (17)). Die Aktivität sinkt auf etwa die Hälfte, wenn man die

pH-Werte 1 Einheit oberhalb oder unterhalb des Optimums einstellt.

Die Ausbeute des enzymatischen Umsatzes und der nachfolgenden Destillation beträgt für Glutaminmengen zwischen 20 und 60 μg im Mittel 93%. Dieser Mittelwert der Ausbeute schwankt mit einem Variationskoeffizient von 5% ($n = 20$).

Die folgenden Substrate ergeben, selbst in einer Menge von 0,5 mg zum Ansatz zugefügt (entsprechend einer Konzentration von 100 mg/100 ml Serumprobe), keine titrierbaren Ammoniakmengen: L-Asparagin, L-Alanin, L-Citrullin, L-Arginin, L-Lysin, DL-Asparaginsäure, L-Glutaminsäure, L-Tyrosin, DL-Tryptophan, DL-Histidin, Putrescin, Cadaverin, Harnstoff, Kreatinin, Kreatin, Guanidin, Harnstoff, Guanin, Adenosin, Glutathion.

Beständigkeit von Glutaminlösungen

Der Glutamingehalt einer wäßr. Lösung (80 μg Glutamin/ml) nimmt bei Aufbewahrung bei -20° im Verlauf von 2 Wochen etwa linear um 10% ab. Der Glutamingehalt einer enteweißten Pool-Serumprobe ähnlicher Konzentration zeigt ein ähnliches Verhalten.

Ergebnisse bei der Untersuchung von Serumproben

Bei der Analyse von Serumproben finden wir die in der Tabelle angegebenen Ergebnisse. Eingetragen ist der Mittelwert in mg Amid/100 ml Serum. In Klammern ist die Streubreite, ausgedrückt als Standardabweichung, aufgeführt. Diese Form der Darstellung erscheint zulässig, weil die Verteilung weitgehend durch eine Glockenkurve beschrieben wird.

Tab. 1
Glutamin- und Asparagingehalte von Serumproben Gesunder und Leberkranker

	Glutamingehalt chromato- graphisch	enzyma- tisch	Asparagingehalt chromatographisch
25 Normal- personen	8,1 ($\pm 1,2$)	8,6 ($\pm 1,0$)	1,0 ($\pm 0,3$)
15 Leber- kranke	10,0 ($\pm 1,1$)	10,2 ($\pm 1,2$)	1,0 ($\pm 0,3$)

Zur Prüfung der Übereinstimmung der Ergebnisse der enzymatischen und der chromatographischen Glutaminbestimmungsmethode wurde der Quotient Glutamin-konzentration, chromatographisch bestimmt/Glutamin-konzentration, enzymatisch bestimmt, gebildet. Bei den 25 Normalpersonen beträgt der Quotient 0,96 mit einer Standardabweichung von 0,09. Bei den Leberkranken ist das Verhältnis ebenfalls 0,96 mit einer Standardabweichung von 0,06.

Es fand sich kein Zusammenhang zwischen der Höhe des Glutaminspiegels und des Asparaginspiegels. Das Verhältnis Glutaminkonzentration/Asparaginkonzentration betrug bei Gesunden 9,3 mit einer Standardabweichung von 4,8. Bei den Leberkranken fanden wir ein Verhältnis von 10,0 mit einer Standardabweichung von 3,3.

Diskussion

Coulometrie

Die Genauigkeit der Ammoniakbestimmung entspricht den von PURDY angegebenen Werten (25). Die Coulometrie ist damit genauer und bequemer als die photometrischen Verfahren zur Bestimmung von Mikrogramm-Mengen von Ammoniak. Die coulometrische Bestimmung läßt sich nach unseren Ergebnissen zur Glutaminbestimmung verwenden, wenn das in Freiheit gesetzte Ammoniak abdestilliert wird. Störende Stoffe werden dadurch offensichtlich in ausreichendem Maße abgetrennt.

Chromatographie

ORESKEs (4, 5) chromatographierte zur Trennung der Amide mit einem Puffergemisch, dessen pH-Wert kontinuierlich von 2,87 bis 5,00 variiert wurde. Unter diesen Bedingungen wird nach unseren Befunden Asparagin bei pH 2,88 und Glutamin bei pH 2,89 eluiert. Wegen dieser geringfügigen Unterschiede verzichteten wir auf den pH-Gradienten. Weiter scheint es uns günstig, die Amide in neutraler Lösung auf die Säule aufzugeben, nicht jedoch in saurer (21). Wir fanden Störungen durch das zur Hemmung des Bakterienwachstums empfohlene Phenol, durch Thioglykol und durch das Netzmittel Brij 35 (21). Wir verzichteten auf diese Zusätze und verwandten nur den reinen Citratpuffer.

Wir können die Angaben von ORESKEs bestätigen, die dieser an einem kleineren Kollektiv (4 Gesunde, 7 Kranke verschiedenster Ätiologie) erhob (5), daß der Asparagin-Gehalt im Serum im Mittel ein Zehntel des Glutamingehaltes beträgt. Aus diesem Befund ergeben sich 2 analytische Konsequenzen bei der Analyse von Humanserum, wenn man mit nicht allzu genauen Glutamin-Werten zufrieden ist. Einmal kann man in diesem Fall mit der Ionenaustauschchromatographie in üblicher Weise, die nicht bewußt auf eine Glutamin-Asparagin-Trennung zugeschnitten ist und bei der beide Amide gemeinsam eluiert werden, den Amid-Peak als weitgehend dem Glutamin zugehörig beschreiben. Andererseits kann man ohne allzu großen Fehler Glutaminase-Präparate verwenden, die eine geringfügige Asparaginase-Aktivität aufweisen.

Genau wie ORESKEs, der 85—91% der eingesetzten Amide wiederfindet, erhalten auch wir diese Stoffe nicht vollständig zurück. Der Fehler ist jedoch eineichbar und die chromatographisch-spektrophotometrische Glutaminbestimmung ist mit einer relativen Standardabweichung von etwa 5% ausreichend genau möglich.

Enzymatische Analyse

Die Glutaminase von Worthington ist wegen ihrer guten Spezifität zur Glutaminbestimmung geeignet. Nach unseren Befunden werden auch andere Bestandteile biologischen Materials, die Amino-Gruppen tragen, nicht angegriffen. Bisher war das nur für die Glutaminaseeinwirkung auf D-Glutamin, Isoglutamin und D- und L-Asparagin nachgewiesen (17).

Neuauflage im Druck

Dorfner

Ionenaustauscher

Eigenschaften und Anwendungen

Von Dr. phil. KONRAD DORFNER
Diplom-Chemiker

3. Auflage

Mit 100 Abbildungen und 27 Tabellen im Text
und ein Tabellenanhang

Oktav. Etwa 330 Seiten. 1970. Plastikeinband DM 58,—

Die knappe Form der Darstellung wie auch die übersichtliche Gliederung und Beifügung von ausgewählten wesentlichen Tabellen und Abbildungen ermöglicht die rasche Information über Ionenaustauscher und ihre Anwendung. Dabei erweisen sich die als Beispiele für die Anwendung dargestellten Arbeitsvorschriften als wertvolle Ergänzung. *Berichte über die gesamte Biologie*

Wenzel-Schulze

Tritium-Markierung

Darstellung, Messung und Anwendung
nach Wilzbach ^3H -markierter Verbindungen

Von MARTIN WENZEL, Physiologisch-Chemisches
Institut der Freien Universität Berlin,
und P. EBERHARD SCHULZE, Hauptlaboratorium
der Schering AG., Isotopenabteilung Berlin

Oktav. Mit 62 Abbildungen und 42 Tabellen.
XII, 176 Seiten. 1962. Plastikeinband DM 26,—

Das Buch wird ein wertvoller Berater weiter Fachkreise sein und trägt bedeutend zur vollständigen Ausnützung der günstigen Eigenschaften dieses Isotops bei. Das Erscheinen dieses Buches ist ein wesentlicher Beitrag zur einstweiligen noch spärlichen deutschen radiochemischen Literatur. *Klinische Wochenschrift*

Walter de Gruyter & Co · Berlin

Besuchen Sie uns auf der

Analytica 70

Halle 5, Stand 5115

Wir sind überzeugt, es lohnt sich für beide Teile!

Aus unserem Programm:

Spektral-Photometer

Modell MPS-50 L

für die Absorptions-Spektralphotometrie beliebiger
durchsichtiger, durchscheinender
und **undurchsichtiger** Proben.

registrierend 190—2500 m μ , Doppel-Strahl-System,
bestechende Io-Einstellung, PM direkt am
Probenraum, großer Proben- und Referenzraum

mit Zubehör für:

Tieftemperatur-Photometrie, Derivative-
Photometrie, Fluoreszenz-Photometrie, Mikro-
Photometrie, Reflexions-Photometrie,
Cross-Illumination-Photometrie



Seisakusho LTD., Kyoto/Japan

Gas-Chromatographen

Vielseitige Typenauswahl! Sensationelle Preise
auf Grund hoher Produktionszahlen
und äußerster Kalkulation.

weiterhin:

**Atom-Absorptions-Flammen-
Photometer**

Streulicht-Photometer

IR-Photometer

Spektrographen

Polarographen u. v. a. m.

Lassen Sie sich bereits vorab durch Unterlagen
informieren!



Shimadzu (Europa) GmbH

4000 Düsseldorf — Königsallee 48

Telefon (0211) 320175 — Telex 08581 377

Verzeichnis der Inserenten

Firma	Seite
Beckman Instruments GmbH, 8000 München	53
BF-Vertriebsges.mBH für Meßtechnik, 7500 Karlsruhe-Durlach	63
BioCal Instrument GmbH, 8032 München-Gräfelfing	41
Biotronik Wissenschaftl. Geräte GmbH, 6000 Frankfurt/M.	54
Bodenseewerk Perkin-Elmer & Co. GmbH, 7770 Überlingen	55
C. F. Boehringer & Soehne GmbH, 6800 MA-Waldhof	68
Burger Eisenwerke AG, 6348 Herborn/Dillkreis	61
Camag AG, CH-4132 Muttenz	50
Colora, 7093 Lorch/Wtbg.	50, 57
Deutsche Pharmacia GmbH, 6000 Frankfurt/M.	39
Ferdinand Enke Verlag, 7000 Stuttgart	Beilage
Farbwerke Hoechst AG, 6230 Frankfurt/M.-Hoechst	45
Fry Consultants Inc., CH-8044 Zürich	64
Gödecke & Co., 7800 Freiburg	42, 47
A. Hölzel, 8250 Dorfen	48
Hormuth-Vetter, 6900 Heidelberg + Wiesloch	46
Ima GmbH & Co. KG, 6300 Gießen	48
Janke & Kunkel KG, 7813 Staufen	54
Jenaer Glaswerk Schott & Gen., 6500 Mainz	59
Dr.-Ing. Herbert Knauer & Co. GmbH, 1000 Berlin	Beilage
E. Merck, 6100 Darmstadt	43
Merz & Dade S. A., CH-3018 Bern	37
Millipore Filter GmbH, 6078 Neu-Isenburg	52
Dr. Molter GmbH, 6900 Heidelberg	67
Münchener Messe-Gesellschaft mbH, 8000 München	61
Philips industrie elektronik GmbH, 2000 Hamburg	51
Carl Roth, 7500 Karlsruhe	Beilage
Walter Sarstedt, 5221 Rommelsdorf	62
Sartorius-Membranfilter GmbH, 3400 Göttingen	Beilage
Serva-Technik GmbH & Co KG, 6909 Malsch b/Heidelberg	40
Shimadzu (Europa) GmbH, 4000 Düsseldorf	65
Sigma Chemical Company, St. Louis/USA	44
Carl Schleicher & Schüll, 3354 Dassel	48
Springer-Verlag, 1000 Berlin	49
Technicon GmbH, 6000 Frankfurt/M.	38
M. Woelm, 3440 Eschwege	63
WTW Wissenschaftl. Techn. Werkstätten GmbH, 8120 Weilheim	57

Vergleich der chromatographisch und enzymatisch gewonnenen Werte

Im Rahmen der Standardabweichungen ergeben beide Verfahren das gleiche Ergebnis. Das gilt auch für die Fälle, wo das anders zusammengesetzte Serum Leberkranker untersucht wird. Die grundsätzlichen Fragestellungen der beiden Methoden (bei der enzymatischen Untersuchung: Art der Bestimmung des Leerwerts, Spezifität des Enzympräparats, ausreichender Umsatz; bei der chromatographischen Untersuchung: schwankende Ausbeute und ihre Beeinflussung durch wechselnde Probenzusammensetzung) scheinen aufgrund dieser Befunde sicher keine Rolle zu spielen.

Klinisch-chemisches Ergebnis

Die von uns gefundenen Werte des Glutamingehaltes menschlichen Serums stimmen überein mit den Angaben anderer Untersucher (Zusammenfassungen bei CLOTTEN (26) und MEISTER (17)). Mit unterschiedlichen Methoden

wird von ihnen an meist sehr viel kleineren Patienten-Kollektiven ein Bereich der Glutaminkonzentration von etwa 4 bis 11 mg/100 ml Serum gefunden. Nach unseren Befunden ist der Glutamingehalt im Serum Leberkranker geringfügig erhöht. Die Normbereiche überlappen sich jedoch stark, so daß unserer Meinung nach ein diagnostischer Wert schwierig zu finden ist.

Stabilität der Serumproben

Angaben über Verluste bei der Aufbewahrung der Serumproben werden diskutiert (4, 5). Die von uns beobachtete etwas größere Stabilität unserer Proben bei der Aufbewahrung bei -20° erklären wir durch die Abwesenheit von Eiweiß im Diazextrakt.

Prof. Dr. GEROK, Medizinische Klinik der Universität Freiburg, danken wir für die zur Verfügung gestellten Serumproben und für die Möglichkeit der Benutzung des Autoanalyzers. Die DFG unterstützte die Untersuchungen (Be 263/5) in dankenswerter Weise.

Literatur

1. LEVIN, B., Amer. J. Dis. Child. 113, 142 (1967). — 2. RUSSEL, A., B. LEVIN, V. G. OBERHOLZER und L. SINCLAIR, Lancet, London 1962/II 699. — 3. MEISTER, A., Biochemistry of the Amino Acids, Academic Press, N. Y. (1965). — 4. ORESKES, I., F. CANTOR und S. KUPFER, Analytic. Chem. 37, 1720 (1965). — 5. ORESKES, I. und S. KUPFER, Analytic. Chem. 39, 397 (1967). — 6. ARCHIBALD, R. M., J. biol. Chemistry 154, 657 (1944). — 7. KLINGMAN, J. D. und P. HANDLER, J. biol. Chemistry 232, 369 (1958). — 8. SAYRE, F. W. und E. ROBERTS, J. biol. Chemistry 233, 1128 (1958). — 9. KLUGE, H., H. HERMANN und V. WIECZOREK, diese Z. 5, 86 (1967). — 10. ERRERA, M., J. biol. Chemistry 178, 438 (1949). — 11. GREENSTEIN, J. P., Advanced Enzymol. N. Y. 8, 117 (1949). — 12. MEISTER, A. und S. V. TICE, J. biol. Chemistry 187, 173 (1950). — 13. OTEY, M. C., S. M. BIRNBAUM und J. P. GREENSTEIN, Arch. Biochem. Biophysics 49, 245 (1954). — 14. KREBS, H. A., Biochem. J. 43, 51 (1948). — 15. HUGHES, D. E. und D. H. WILLIAMSON,

Biochem. J. 51, 45 (1952). — 16. CONWAY, E. J., Microdiffusion Analysis and Volumetric Error, S. 187, Crosby Lockwood & Son, London (1957). — 17. MEISTER, A., in Methods in Enzymology, Vol. 11 S. 380 (1955). — 18. OLSEN, E. M., D. C. HILL und H. D. BRANION, Canad. J. Biochem. 40, 381 (1962). — 19. GREENBERG, D. M. und M.-E. A. RAMADAN, Analytic. Biochem. 6, 144 (1963). — 20. PREUSS, H. G., P. B. BISE und G. E. SCHREINER, Clin. Chem. (New York) 12, 329 (1966). — 21. Technicon GmbH, Ergebnisse der Aminosäuren-Säulenchromatographie, Frankfurt. — 22. PERRY, T. L. und S. HAUSE, Vlin. chim. Acta (Amsterdam) 25, 53 (1969). — 23. HOFFMEISTER, H. und W. TARNOWSKI, diese Z. 6, 56 (1968). — 24. GEILMANN, W. und K. BEYERMANN, Z. analyt. Chem. 146, 254 (1955). — 25. CHRISTIAN, G. D., E. C. KNOBLOCK und W. C. PURDY, Analytic. Chem. 35, 2217 (1963). — 26. CLOTTEN, R. und A. CLOTTEN, Hochspannungselektrophorese, S. 378, Thieme, Stuttgart (1962).

Prof. Dr. K. Beyermann
6500 Mainz
Joh.-Joachim-Becher-Weg 24